

版本号: DP121221

DNasecure Plant Kit

新型植物基因组DNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP320

产品内容

产品组成	DP320-02 (50 preps)	DP320-03 (200 preps)
缓冲液LP1 (Buffer LP1)	25 ml	100 ml
缓冲液LP2 (Buffer LP2)	10 ml	40 ml
缓冲液LP3 (Buffer LP3)	21 ml	84 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml	50 ml
洗脱缓冲液TE (Buffer TE)	15 ml	60 ml
RNase A(10 mg/ml)	300 μ l	1.25 ml
吸附柱CB3 (Spin Columns CB3)	50个	200个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50个	200个

储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25 $^{\circ}$ C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于2-8 $^{\circ}$ C。2-8 $^{\circ}$ C保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37 $^{\circ}$ C水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，提取多种植物组织中的基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，高效、专一吸附DNA，可最大限度去除杂质蛋白。提取的基因组DNA片段大，纯度高，质量稳定可靠。

使用本试剂盒回收的DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、文库构建、Southern杂交等实验。

产品特点

简单快速： 1h内即可获得超纯的基因组DNA。

广 泛： 适用于各种植物组织。

超 纯： 获得的DNA纯度高，可直接用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量也下降。
 2. 缓冲液LP1可能发黄，并不影响提取效果。
 3. 若缓冲液LP1或LP2有沉淀析出，可在37℃水浴溶解，摇匀后使用。
 4. 所有离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。
-

操作步骤

使用前请先在缓冲液LP3和漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 处理材料:

取植物新鲜组织100 mg或干重组织20 mg，加入液氮充分碾磨。加入400 μ l缓冲液LP1和6 μ l RNase A(10 mg/ml)，旋涡振荡1 min，室温放置10 min。

2. 加入130 μ l缓冲液LP2，充分混匀，旋涡振荡1 min。

3. 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心5 min，将上清移至新的离心管中。

4. 加入1.5倍体积的缓冲液LP3（例如500 μ l的上清液加750 μ l缓冲液LP3）（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），立即充分振荡混匀15 sec，此时可能会出现絮状沉淀。

5. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个吸附柱CB3中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心30 sec，倒掉废液，吸附柱CB3放入收集管中。

6. 向吸附柱CB3中加入600 μ l漂洗液PW（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放入收集管中。

注意：如果吸附柱膜呈现绿色，向吸附柱CB3中加入500 μ l 无水乙醇，12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放入收集管中。

7. 重复操作步骤6.

8. 将吸附柱CB3放回收集管中，12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心2 min，倒掉废液。将吸附柱CB3置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

9. 将吸附柱CB3转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加50-200 μ l洗脱缓冲液TE，室温放置2-5 min，12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心2 min，将溶液收集到离心管中。

注意：为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱CB3中，室温放置2 min，12,000 rpm (\sim 13,400 \times g)离心2 min。洗脱缓冲液体积不应少于50 μ l，体积小影响回收效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用ddH₂O做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20 $^{\circ}$ C，以防DNA降解。

DNA浓度及纯度检测

得到的基因组DNA片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA应在OD₂₆₀处有显著吸收峰，OD₂₆₀值为1相当于大约50 μ g/ml双链DNA、40 μ g/ml单链DNA。

OD₂₆₀/OD₂₈₀比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用ddH₂O，比值会偏低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。
